

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005 年 9 月 22 日 (22.09.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/087289 A1

- (51) 国際特許分類: A61L 31/00, 2590151 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口 1 5 0 0 番地 テルモ株式会社内 Kanagawa (JP).
A61K 31/715, A61P 41/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2005/004311 (74) 代理人: 渡辺 望稔, 外(WATANABE, Mochitoshi et al.); 〒1010032 東京都千代田区岩本町 2 丁目 1 2 番 5 号 早川トナカイビル 3 階 Tokyo (JP).
- (22) 国際出願日: 2005 年 3 月 11 日 (11.03.2005)
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2004-072887 2004 年 3 月 15 日 (15.03.2004) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): テルモ株式会社 (TERUMO KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒1510072 東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 4 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 阿部 吉彦 (ABE, Yoshihiko) [JP/JP]; 〒2590151 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口 1 5 0 0 番地 テルモ株式会社内 Kanagawa (JP). 園田 雄太郎 (SONODA, Yutaro) [JP/JP]; 〒2590151 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口 1 5 0 0 番地 テルモ株式会社内 Kanagawa (JP). 小西 淳 (KONISHI, Jun) [JP/JP]; 〒2590151 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口 1 5 0 0 番地 テルモ株式会社内 Kanagawa (JP). 安齋 崇王 (ANZAI, Takao) [JP/JP]; 〒2590151 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口 1 5 0 0 番地 テルモ株式会社内 Kanagawa (JP). 清水 美雪 (SHIMIZU, Miyuki) [JP/JP];
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ADHESION PREVENTIVE MATERIAL

(54) 発明の名称: 癒着防止材

(57) Abstract: An adhesion preventive material comprising a crosslinkable polysaccharide derivative which has, incorporated in a polysaccharide side chain, at least one active ester group reactive with an active-hydrogen-containing group and which, upon contact with water under alkaline conditions, can form a crosslinked object through covalent bonding between the active ester group and an active-hydrogen-containing group. The treatment of the material to be conducted in preparation for the use predicted beforehand is easy and needs no special apparatus.

(57) 要約: 多糖側鎖に導入された、活性水素含有基と反応する活性エステル基を少なくとも 1 つ有し、アルカリ条件下での水との接触により、前記活性エステル基と活性水素含有基との共有結合による架橋物を形成する架橋性多糖誘導体からなり、用時を予め見計らって行う準備操作が簡便であり、かつ特別な装置を必要としない癒着防止材。

WO 2005/087289 A1

明 細 書

癒着防止材

技術分野

- [0001] 本発明は、特定の架橋条件で使用するための架橋性多糖誘導体、および該多糖誘導体を含む組成物からなる癒着防止材に関する。

背景技術

- [0002] 外科手術において、手術操作により生体組織に侵襲があった場合、その部位の組織治癒過程での炎症により癒着が起こり、その癒着により組織や臓器の正常な動作を妨げることにより、術後の合併症として問題となることがある。たとえば腹腔領域では、術後に腸管と腹膜での癒着が原因で起こる腸閉塞は重篤な合併症である。

このような術後の癒着を防止する目的として、組織や臓器間のバリア効果を期待して、生体吸収性の癒着防止材を使用することがある。

- [0003] これまで癒着防止材の材料として、たとえば、微生物が生産する線維状セルロース(特許文献1)、アニオン性基(カルボキシル基、スルホン酸基)を有する酸性多糖と、カチオン性基(アミノ基)を有する塩基性多糖:たとえばキトサンとのポリイオンコンプレックスの乾燥フィルム(特許文献2)、カルボキシ含有ポリサッカロイドとポリエーテルの高分子間複合体の膜(特許文献3)、ポリサッカロイドデキストリンを含む水性製剤(特許文献4)などが提案されている。

特許文献1:特許第2853165号公報

特許文献2:特表2000-116765号公報

特許文献3:特表2002-520243号公報

特許文献4:特表2003-520243号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0004] 前述の通り、癒着防止材は、臨床上の要求を満たすことはもちろんのこと、安全性の面でも、非生体由来材料を利用することによる感染症等のリスク回避、合成材料を利用することによる成分自体またはその分解物の毒性の低減、および生体分解吸収

性を有するように材料設計されることが重要である。さらには、手術中に用時を予め見計らって行う準備操作を少なくし、急な適用に対して迅速に対応でき、その使用にあたり特別な装置が不要であることが望ましい。

課題を解決するための手段

[0005] 本発明は、上述のように要求される癒着防止材を実現しうるものとして、多糖誘導体の新規な使用方法を提供することを目的としている。すなわち該多糖誘導体を含む架橋材料からなる癒着防止材、さらには、用時を予め見計らって行う準備操作が簡便であり、かつ特別な装置を必要としない癒着防止材を提供することを目的としている。

なお従来、前述したとおり多糖類の癒着防止材への利用を提案するものもいくつかあるが、活性化した架橋性多糖の未架橋状態での使用は開示しない。

本発明の目的は、下記の(1)～(35)により達成される。

[0006] (1) 多糖側鎖に導入された、活性水素含有基と反応しうる活性エステル基を少なくとも1つ有し、アルカリ条件下での水との接触により、前記活性エステル基と活性水素含有基との共有結合による架橋物を形成しうる架橋性多糖誘導体からなる癒着防止材。

[0007] (2) 前記活性水素含有基が多糖分子内水酸基であり、前記多糖誘導体が自己架橋性である(1)に記載の癒着防止材。

(3) 前記活性水素含有基が生体表面の活性水素含有基であり、前記多糖誘導体が生体表面への接着性を有する(1)または(2)に記載の癒着防止材。

[0008] (4) 前記活性エステル基が、そのカルボニル炭素に、求電子性基が結合したエステル基である(1)～(3)のいずれかに記載の癒着防止材。

(5) 前記求電子性基が、N-ヒドロキシアミン系化合物から導入される基である(4)に記載の癒着防止材。

(6) 前記活性エステル基が、スクシンイミドエステル基である(1)～(5)に記載の癒着防止材。

[0009] (7) 前記多糖誘導体が、その乾燥重量に対し、前記活性エステル基を0.1～2mmol/gの量で含む(1)～(6)のいずれかに記載の癒着防止材。

- [0010] (8)前記多糖誘導体が、カルボキシ基および／またはカルボキシアルキル基をさらに有する(1)～(7)のいずれかに記載の癒着防止材。
- [0011] (9)前記多糖誘導体が非塩型である(1)～(8)のいずれかに記載の癒着防止材。
- [0012] (10)前記活性エステル基が導入される原料多糖が、カルボキシ基および／またはカルボキシアルキル基を有する前記架橋性多糖誘導体の前駆段階において、その非塩型で、60℃から120℃の間の温度で、非プロトン性極性溶媒に溶解性を示す多糖である(1)～(9)のいずれかに記載の癒着防止材。
- [0013] (11)前記活性エステル基が導入される原料多糖が、それ自身はカルボキシ基およびカルボキシアルキル基をもたない多糖である(1)～(10)のいずれかに記載の癒着防止材。
- (12)前記原料多糖が、デキストランおよびプルランからなる群より選ばれる少なくとも1つの多糖である(11)に記載の癒着防止材。
- [0014] (13)前記活性エステル基が導入される原料多糖が、ペクチンおよび／またはヒアルロン酸である(1)～(12)のいずれかに記載の癒着防止材。この原料多糖は、そのまま活性エステル化前駆体(酸基含有多糖)である。
- [0015] (14)前記アルカリ条件が、pH7.5～12の範囲である(1)～(13)のいずれかに記載の癒着防止材。
- [0016] (15)粉末状である(1)～(14)のいずれかに記載の癒着防止材。
- [0017] (16)未架橋シート状物である(1)～(14)のいずれかに記載の癒着防止材。
- (17)前記シート状物が、加熱乾燥フィルムまたは凍結乾燥シートである(16)に記載の癒着防止材。
- [0018] (18)前記(1)～(17)のいずれかで規定の架橋性多糖誘導体(A)と、該多糖誘導体(A)以外のポリマー(C)とを含む架橋性多糖組成物からなる癒着防止材。
- [0019] (19)前記ポリマー(C)が、1分子中に2個以上の第1級アミノ基および／またはチオール基を有するポリマーである(18)に記載の癒着防止材。
- [0020] (20)前記ポリマー(C)が、ポリアルキレングリコール誘導体、ポリペプチド、多糖およびその誘導体から選ばれる少なくとも1つである(18)または(19)に記載の癒着防止材。

- [0021] (21)前記ポリアルキレングリコール誘導体が、ポリエチレングリコール(PEG)誘導体、ポリプロピレングリコール誘導体、ポリブチレングリコール誘導体、ポリプロピレングリコール-ポリエチレングリコールのブロックコポリマー誘導体、およびランダムコポリマー誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1つである(20)に記載の癒着防止材。
- [0022] (22)前記ポリエチレングリコール誘導体の基本ポリマー骨格が、エチレングリコール、トリメチロールエタン、ジグリセロール、ペンタエリスリトールおよびヘキサグリセロールからなる群から選ばれる少なくとも1つであり、かつ分子量が100〜50,000である(21)に記載の癒着防止材。
- [0023] (23)前記ポリエチレングリコール誘導体が、両末端にチオール基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型ポリエチレングリコール誘導体、両末端にアミノ基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型ポリエチレングリコール誘導体、3つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型ポリエチレングリコール誘導体、3つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型ポリエチレングリコール誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型ポリエチレングリコール誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型ポリエチレングリコール誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型ポリエチレングリコール誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型ポリエチレングリコール誘導体、8つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型ポリエチレングリコール誘導体、および8つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型ポリエチレングリコール誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1つである(21)に記載の癒着防止材。
- [0024] (24)前記ポリペプチドが、コラーゲン、ゼラチン、アルブミンおよびポリリジンから選ばれる少なくとも1つである(20)に記載の癒着防止材。

- [0025] (25)前記多糖が、ペクチン、ヒアルロン酸、キチン、キトサン、カルボキシメチルキチン、カルボキシメチルキトサン、コンドロイチン硫酸、ケラチン硫酸、ケラト硫酸、ヘパリンおよびそれらの誘導体から選ばれる少なくとも1つである(20)に記載の癒着防止材。
- [0026] (26)前記架橋性多糖誘導体(A)と、前記ポリマー(C)とを、別々の水溶液で含む(18)〜(25)のいずれかに記載の癒着防止材。
- [0027] (27)粉末状である(18)〜(25)のいずれかに記載の癒着防止材。
- [0028] (28)未架橋シート状物である(18)〜(25)のいずれかに記載の癒着防止材。
- [0029] (29)前記シート状物が、多糖誘導体(A)の未架橋シートに、前記ポリマー(C)のシートを添着させた複合シートである(28)に記載の癒着防止材。
- [0030] (30)前記(1)〜(17)のいずれかで規定の架橋性多糖誘導体(A)と、該多糖誘導体(A)と非混合状態のpH調整剤(B)を含む架橋性多糖組成物からなる癒着防止材。
- [0031] (31)前記架橋性多糖組成物が、多糖誘導体(A)と非混合状態のpH調整剤(B)をさらに含む前記(18)〜(26)のいずれかに記載の癒着防止材。
- [0032] (32)前記ポリマー(C)の水溶液が、前記pH調整剤(B)を含む(26)に記載の癒着防止材。
- [0033] (33)エアロゾルまたはペーストである(1)〜(32)に記載の癒着防止材。
- [0034] (34)(1)〜(33)に記載の癒着防止材を含むキット。
- [0035] (35)(1)〜(33)のいずれかに記載の癒着防止材を、所望の部位で、アルカリ条件下での水分の存在下で反応させることからなる生体の癒着防止方法。

発明の効果

- [0036] 本発明の癒着防止材に係る架橋性多糖誘導体は、生体由来材料および潜在的な毒性を有する化学物質を誘導体の骨格としないことで本質的に生物学的および化学的安全性を有し、優れた生体適合性材料である。また該架橋性多糖誘導体は、アルカリ条件下で自己架橋性および生体表面への接着性を示し、また特別な装置を必要とせず、用時調製が容易で、生体表面との接着性が充分で、かつ被着体への追従性および柔軟性に優れた架橋物を形成することができ、癒着防止材として有用であ

る。

発明を実施するための最良の形態

[0037] 以下に、本発明を具体的に説明する。

まず本発明の癒着防止材に係る架橋性多糖誘導体について説明する。架橋性多糖誘導体は、多糖側鎖に導入された、活性水素含有基と反応しうる活性エステル基を少なくとも1つ有する。この活性エステル基が導入される多糖(原料)については後述するが、多糖分子は本質的に水酸基を自己保有し、すなわち活性水素含有基を有するため、該多糖に活性エステル基が導入された多糖誘導体は、1分子鎖内に活性エステル基および活性水素含有基を両具し、反応条件下で自己架橋性を示す。この自己架橋性は、活性エステル基と活性水素含有基とが、多糖誘導体の1分子内でまたは分子間で反応して、共有結合を形成することをいう。また生体表面の活性水素含有基を反応に利用した場合には、この架橋性多糖誘導体は、生体表面への接着性を示す。

[0038] 本明細書において、このような架橋性多糖誘導体は、活性エステル化多糖と称することもあり、以下では、単に多糖誘導体ということもある。

なお「1分子鎖」または「分子内」の分子とは、共有結合により連続した結合で繋がった範囲の1つの分子を意味する。

本発明に係る多糖誘導体は、活性エステル化された多糖であり、本質的に多糖骨格を保持している。したがって以下には、多糖誘導体を、多糖の活性エステル化方法(多糖誘導体の製造方法)と並列的に説明することがある。

[0039] 本発明において、多糖に導入される活性エステル基は、アルカリ条件下の水存在下で、活性水素含有基と反応して共有結合を形成できるものであればよい。このような活性エステル基は、通常、多糖分子が自己保有するか、または酸型化によって導入されたカルボキシ基またはメチルカルボキシ基のカルボニル炭素に、通常のエステルに比して強い求電子性基を結合させた基である。具体的にこの活性エステル基を「-COOX」で表した時、アルコール部位「-OX」を形成する上記求電子性基は、N-ヒドロキシアミン系化合物から導入される基であることが好ましい。N-ヒドロキシアミン系化合物は、比較的安価な原料であるため、活性エステル基導入の工業的に実施

が容易であるからである。

- [0040] 前記「-OX」を形成するためのN-ヒドロキシアミン系化合物としては、具体的に、N-ヒドロキシスクシンイミド、N-ヒドロキシノルボルネン-2, 3-ジカルボン酸イミド、2-ヒドロキシイミノ-2-シアノ酢酸エチルエステル、2-ヒドロキシイミノ-2-シアノ酢酸アミド、N-ヒドロキシピペリジン等が代表的なものとして挙げられる。

本発明において、多糖誘導体の活性エステル基は、1種単独でも2種以上が存在していてもよい。

このような活性エステル基の中でも、スクシンイミドエステル基が好ましい。

- [0041] 本発明で使用する多糖誘導体は、分子内に上記活性エステル基を少なくとも1つ有するが、架橋マトリックスを形成するためには、通常、1分子中に2以上有する。使用目的によっても異なるが、その乾燥重量1gあたりの活性エステル基量で表したとき、0.1〜2mmol/gであることが好ましい。

- [0042] 本発明において、活性エステル基が導入され、多糖誘導体の主骨格を構成する多糖は、主骨格に単糖構造を2単位以上有するものであればよく、特に制限されない。このような多糖は、アラビノース、リボース、キシロース、グルコース、マンノース、ガラクトース、フルクトース、ソルボース、ラムノース、フコース、リボデソース等の単糖類；トレハロース、スクロース、マルトース、セロビオース、ゲンチオビオース、ラクトース、メリビオース等の二糖類；ラフィノース、ゲンチアノース、メレチトース、スタキオース等の三糖以上の多糖類が、共有結合することにより形成されたもの、およびこれに対して、さらに官能基を導入したものが挙げられる。本発明において、このような多糖は、天然に存在するものでも、人工的に合成されたものでもよい。また、本発明に係る多糖誘導体は、1種単独の、または2種以上の多糖の骨格とすることができる。

- [0043] 多糖誘導体の主骨格となる多糖の重量平均分子量に特に制限はない。好ましくは、上記の単糖類、二糖類または三糖以上の多糖類が、数十〜数千個結合したものに相当する重量平均分子量5,000〜250万の多糖である。このような多糖であれば、本発明に係る多糖誘導体が架橋した後のゲルの硬度を調整しやすく、活性エステル基および活性水素含有基を1分子鎖に複数導入しやすいからである。より好ましくは、重量平均分子量10,000〜100万の多糖である。

- [0044] 多糖誘導体の主骨格を形成する原料多糖は、上記の構成成分を持ち、活性エステル化前駆段階で、活性エステル基「 —COOX 」を形成するためのカルボン酸基を有する多糖（以下、酸基含有多糖と称することもある）が好ましい。ここでのカルボン酸基は、カルボキシ基および／またはカルボキシアルキル基（以下、これらをカルボン酸基と称することもある）をいい、カルボキシアルキル基とは、カルボキシメチル基、カルボキシエチル基、カルボキシプロピル基、カルボキシイソプロピル基、カルボキシブチル基等に例示されるように、カルボキシ基がアルキル骨格に結合している官能基のことである。
- [0045] 上記原料多糖は、架橋性多糖誘導体の前駆段階で酸基含有多糖であればよく、カルボン酸基を自己保有する天然多糖であってもよく、それ自体はカルボン酸基を有さない多糖に、カルボキシ基および／またはカルボキシアルキル基を導入した多糖であってもよい。このようなカルボン酸基含有多糖の中でも、カルボキシ基を有する天然多糖、カルボキシ基を導入したカルボキシ化多糖、カルボキシメチル基を導入したカルボキシメチル化多糖、カルボキシエチル基を導入したカルボキシエチル化多糖が好ましい。より好ましくは、カルボキシ基を有する天然多糖、カルボキシ基を導入したカルボキシ化多糖、カルボキシメチル基を導入したカルボキシメチル化多糖である。
- [0046] 上記カルボン酸基を自己保有する天然多糖としては、特に限定されないが、ガラクトツロン酸を含むペクチンやヒアルロン酸等が挙げられる。例えば、ペクチンはCP Kelco社（デンマーク）の「GENUE pectin」、また、ヒアルロン酸は紀文社（日本）の「ヒアルロン酸FCH」が挙げられ、一般的に商業流通しているものを利用できる。ペクチンはガラクトツロン酸を主成分とする多糖である。ペクチンの約75～80%以上がガラクトツロン酸からなり、その他の成分としては、主に他の糖からなる。ペクチンは、上記の割合でガラクトツロン酸と他の糖が結合してなる多糖である。ヒアルロン酸は、眼科用手術補助剤や変形性膝関節症治療薬等に使用されている。ヒアルロン酸はガラクトツロン酸を含まない。
- [0047] 本発明では、多糖誘導体のカルボキシ基および／またはカルボキシアルキル基は、塩が配位していない「非塩型」であることが望ましく、最終的に得られる多糖誘導体

が塩形態ではないことが望ましい。ここで「塩」とは、アルカリ金属、アルカリ土類金属などの無機塩、テトラブチルアンモニウム(TBA)などの四級アミン、ヨウ化クロロメチルピリジリウムなどのハロゲン塩などを包含する。「非塩型」とは、これらの「塩」が配位していないことであり、「塩形態ではない」とは、これらの塩を含まないことを意味する。

[0048] 上記カルボキシ基および／またはカルボキシアルキル基が導入される多糖としては、特に限定されないが、デキストラン、プルランが挙げられる。

上記デキストランは、代用血漿剤として使用されている。デキストランとしては、アマシャムバイオサイエンス社(日本)の「Dextran T fractions」、プルランは林原社(日本)の「Pullulan PI-20」が挙げられる。プルランは、経口薬を含む医薬添加剤として使用されており、エンドトキシン等の生物学的コンタミネーションが少ないものが好適である。

いずれの多糖も、本発明においては、一般的に商業流通しているものを利用できる。上記医療用途で実績のある多糖は、本発明においては安全性面で好適に利用できる多糖である。

[0049] 多糖のカルボキシ化反応は、公知の酸化反応を利用して、特に制限なく行うことができる。カルボキシ化反応の種類は、特に限定されないが、例えば、四酸化二窒素酸化、発煙硫酸酸化、リン酸酸化、硝酸酸化、過酸化水素酸化が挙げられ、各々、試薬を用いて通常知られた反応を選択して酸化することができる。各反応条件はカルボキシ基の導入量により適宜設定することができる。例えば、原料となる多糖をクロロホルムあるいは四塩化炭素中に懸濁させ、四酸化二窒素を加えることにより、多糖の水酸基を酸化してカルボキシ化多糖(多糖のカルボキシ化体)を調製することができる。

また、カルボキシアルキル化反応は、公知の多糖のカルボキシアルキル化反応を利用することができ、特に限定されないが、具体的にカルボキシメチル化反応の場合には、多糖をアルカリ化した後にモノクロル酢酸を使用した反応を選択することが可能である。その反応条件はカルボキシメチル基の導入量により適宜設定することができる。

[0050] 本発明では、多糖にカルボン酸基を導入する方法として、上記カルボキシ化または

カルボキシアルキル化のいずれの方法も利用でき、特に限定されないが、カルボキシ基導入反応による多糖の分子量の低下が小さく、カルボキシ基の導入量を比較的にコントロールしやすい点で、カルボキシアルキル化、特にカルボキシメチル化が好適である。

[0051] また本発明では、カルボン酸基の導入は、それ自身カルボン酸基をもたない多糖への導入に特に制限されない。それ自身カルボン酸基を有する天然多糖、たとえば、前記ヒアルロン酸などに、さらにカルボキシ基および／またはカルボキシメチル基を導入してもよい。

上記のような酸基含有多糖のカルボキシ基および／またはカルボキシメチル基を活性エステル化するに際して、酸基含有多糖は、単独で使用しても良いし、2種以上のものを併用して使用しても良い。

[0052] 活性エステル化に使用される酸基含有多糖は、その乾燥重量1gあたりのカルボン酸基(該基を1分子とみなして)量が、通常、0.1〜5mmol/g、好ましくは0.4〜3mmol/g、より好ましくは0.6〜2mmol/gである。このカルボン酸基量の割合が、0.1mmol/gより少ないと、該基から誘導され架橋点となる活性エステル基数が不十分になる場合が多い。一方、カルボン酸基量の割合が、5mmol/gより多くなると、多糖誘導体(未架橋)が水を含む溶媒に溶解しにくくなる。

[0053] 上記酸基含有多糖の活性エステル化方法(多糖誘導体の製造方法)は、特に制限されず、たとえば、上記の酸基含有多糖を、脱水縮合剤との存在下で、求電子性基導入剤と反応させる方法、活性エステル基を有する化合物から活性エステル基を多糖に導入するエステル交換反応を用いる方法等が挙げられる。これらの中でも、前者の方法が本発明には好適であり、以下、主として、この方法(本発明の方法ともいう)について説明する。

[0054] 本発明の上記好ましい方法を行うに際しては、通常、上記酸基含有多糖を、非プロトン性極性溶媒の溶液に調製して反応に供する。より具体的には、該方法は、カルボキシ基またはカルボキシアルキル基を有する多糖を非プロトン性極性溶媒に溶解させる溶液調製工程、および該溶液に求電子性基導入剤と脱水縮合剤を添加して多糖のカルボキシ基またはカルボキシアルキル基を活性エステル化させる反応工程を

行う方法、さらに反応生成物の精製工程および乾燥工程を行う方法が挙げられる。

- [0055] 溶液調製工程においては、多糖を溶媒に加え、60℃～120℃に加熱することによって、多糖の非プロトン性極性溶媒への溶解が達成される。

したがって、この方法で活性エステル化される酸基含有多糖として、上記に例示した多糖のうちでも、60℃～120℃の間の温度で非プロトン性極性溶媒に溶解するのが好ましく使用される。具体的に、求電子性基導入のための反応に用いられる多糖は、非プロトン性極性溶媒への溶解性の点から、カルボキシ基またはカルボキシメチル基が酸型であることが好ましい。「酸型」とは、カルボキシ基またはカルボキシメチル基のカウンターカチオン種がプロトンであることをいう。酸型のカルボキシ基を有する多糖を酸型（原料）多糖という。例えば、カルボキシ基を有する多糖であるペクチンを酸型ペクチンという。酸型のカルボキシメチル基を有するカルボキシメチルデキストランを酸型カルボキシメチル（CM）デキストラン（酸型CMデキストラン）という。「酸型」は、カウンターのカチオン種がプロトンであり、塩形態ではない点で前記「非塩型」と同義である。

- [0056] 「非プロトン性極性溶媒」とは、電氣的に陽性な官能基を有する求核剤と水素結合を形成できるプロトンを持たない極性溶媒である。本発明に係る製造方法で使用できる非プロトン性極性溶媒は、特に限定されないが、ジメチルスルホキシド（DMSO）、N, N-ジメチルホルムアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N, N-ジメチルアセトアミド、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノンが例示される。多糖の溶媒への溶解性が良好であることから、ジメチルスルホキシドが好適に利用できる。

- [0057] 反応工程では、酸型多糖溶液に、求電子性基導入剤と脱水縮合剤とを添加して、多糖のカルボキシ基および／またはカルボキシメチル基を活性エステル化させる。活性エステル化させる時の反応温度は、特に限定されないが、好ましくは0℃～70℃、より好ましくは、20℃～40℃である。反応時間は反応温度により様々であるが、通常は1～48時間、好ましくは12時間～24時間である。

- [0058] 「求電子性基導入剤」は、カルボキシ基またはカルボキシアルキル基に、求電子性基を導入し、それらを活性エステル基へ変化させる試薬をいう。求電子性基導入剤としては、特に限定されないが、ペプチド合成に汎用されている活性エステル誘導性

化合物が利用でき、その一例として、N-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物が挙げられる。N-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物としては、特に限定されないが、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド、N-ヒドロキシノルボルネン-2, 3-ジカルボン酸イミド、2-ヒドロキシイミノ-2-シアノ酢酸エチルエステル、2-ヒドロキシイミノ-2-シアノ酢酸アミド、N-ヒドロキシピペリジン等が挙げられる。このなかでも、N-ヒドロキシスクシンイミドが、ペプチド合成分野での実績があり、商業上入手しやすいことより好適である。

[0059] 「脱水縮合剤」は、カルボキシ基またはカルボキシアルキル基に求電子性基導入剤を使用して活性エステル基とする際に、カルボキシ基またはカルボキシアルキル基と、求電子性基導入剤との縮合で生成する水分子を1つ引き抜き、すなわち脱水して、両者をエステル結合させるものである。脱水縮合剤としては、特に限定されないが、例えば、1-エチル-3-ジメチルアミノプロピルカルボジイミド塩酸塩 (EDC·HCl)、1-シクロヘキシル-(2-モルホニル-4-エチル)-カルボジイミド・メソ-p-トルエンスルホネート等が挙げられる。このなかでは、1-エチル-3-ジメチルアミノプロピルカルボジイミド塩酸塩 (EDC·HCl) が、ペプチド合成分野での実績があり、商業上入手しやすいことより好適である。

[0060] 精製工程においては、反応工程終了後、反応溶液より、通常の再沈、ろ過および／または洗浄等の手段により、未反応の求電子性基導入剤、脱水縮合剤、および反応副生成物を除去し、本発明に係る多糖誘導体を得ることができる。

乾燥工程においては、前記精製工程で得られた多糖誘導体から洗浄溶媒を除去するため、通常使用される方法により乾燥させればよい。

[0061] 本発明では、前述したように、最終的に多糖誘導体の活性エステル基量は、0.1～2mmol/gであることが好ましく、上記においては、このような多糖誘導体を得られるように、活性エステル化原料多糖のカルボキシ基への活性エステル基導入量を制御することができる。

[0062] 活性エステル基の導入量を制御するためには、前記反応工程において、求電子性基導入剤と脱水縮合剤の混合量を調整することができる。具体的には、多糖の全カルボキシ基のモル数 (Xmmol) に対する脱水縮合剤のモル数 (Zmmol) の比 (Z/X

)が、前述の反応温度において、 $0.1 < Z/X < 50$ を満たす添加条件であることが好ましい。 Z/X が0.1より小さい場合、脱水縮合剤の添加量が少ないため反応効率が低く、所望の活性エステル基導入率を達成し難くなり、 Z/X が50より大きい場合、脱水縮合剤の添加量が多いため、活性エステル基の導入率は高くなるものの、得られた多糖誘導体が水に溶解しにくくなるからである。

[0063] 多糖の全カルボキシ基のモル数(Xmmol)に対する求電子性基導入剤のモル数(Ymmol)は、活性エステル基の導入率に応じた反応量以上を添加すれば良く、特に限定されないが、 $0.1 < Y/X < 100$ を満たす添加条件であることが好ましい。

[0064] 本発明に係る多糖誘導体は、活性エステル基が導入された後も、通常、グルコピラノース環が有する水酸基を多糖骨格分子内に有し、したがって活性水素含有基を自己保有するが、分子内の活性水素含有基は、これに限定されず、必要に応じて分子内に導入した活性水素含有基をさらに有していてもよい。この場合、多糖誘導体の有する活性水素含有基は、1種であっても2種以上であってもよい。

[0065] 本発明に係る多糖誘導体は、上記活性エステル基および活性水素含有基に加え、本発明の特性を損なわない範囲であれば、公知の元素、原子団等の官能基を広く含むことができる。

このような官能基として具体的には、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素等のハロゲン元素；カルボキシ基；カルボキシメチル基、カルボキシエチル基、カルボキシプロピル基、カルボキシイソプロピル基等のカルボキシアルキル基；シリル基、アルキレンシリル基、アルコキシシリル基、リン酸基等が挙げられる。このような官能基は、1種単独でも2種以上が導入されていてもよい。

[0066] 活性エステル基の導入率(%)は、活性エステル化原料の多糖が有するカルボキシ基含有モル量およびカルボキシメチル基含有モル量(以下、全カルボキシ基(TC)と表記する)に対して、得られた多糖誘導体中の活性エステル基含有量モル量(AE)の比(AE/TC)に100を乗することで表すことができる。

活性エステル基導入率は、例えば、Biochemistry Vol. 14, No.7(1975), p1535-1541に記載の方法により決定することができる。

特に、上記100%未満の活性エステル基の導入率で活性エステル基が導入された

場合に残存する原料多糖の有するカルボキシ基および／またはカルボキシメチル基を有していてもよい。

[0067] 「架橋構造」とは、本発明に係る多糖誘導体の1分子鎖内および／または複数分子鎖間で共有結合を形成し、結果として多糖誘導体の分子鎖が網目状の三次元構造をとることを意味する。この架橋により、活性エステル基と活性水素含有基とは、1分子鎖内で結合することもできるが、複数分子間で共有結合して架橋されてもよい。架橋形成反応前は水溶性である本発明に係る多糖誘導体は、反応が進行するとともに架橋構造を形成し、流動性が低下して、水不溶性の塊状物(含水ゲル)となり、多糖架橋体を形成する。特に他の架橋剤を使用することなく、自らの分子鎖内、または分子鎖間で共有結合により架橋構造を形成することができる性質を「自己架橋性」と定義すると、本発明に係る多糖誘導体は、自己架橋性多糖である。

[0068] また本発明に係る多糖誘導体は、上記のように分子内活性水素含有基の関与による自己架橋性であるだけでなく、該多糖誘導体を、生体表面に適用すれば、生体表面の活性水素含有基と活性エステル基との反応により、生体表面への接着性を示すことができる。このような使用形態は、本発明に係る多糖誘導体の好ましい態様である。なお生体表面に適用時には、同時に自己架橋を生じても勿論よい。

[0069] 本発明において、活性エステル基との反応に関与する活性水素含有基は、本発明特定の反応条件下で、上記活性エステル基と反応して共有結合を形成しうる基であれば特に限定されない。本発明においても一般的な活性水素含有基として例示のものに準ずることができる。具体的には、水酸基、アミノ基、チオール基等が挙げられる。ここで、アミノ基は、第1級アミノ基と第2級アミノ基を含む。これらの中でも、活性水素含有基が水酸基、第1級アミノ基である場合には、活性エステル基との反応性が良好で、架橋してゲル化するまでの時間が短いため好ましい。

[0070] 本発明において、上記多糖誘導体の架橋反応は、活性エステル基と活性水素含有基との反応による共有結合の形成に基づく。具体的には、多糖誘導体を、アルカリ条件下で、水、水蒸気、水を含む溶媒等の水分存在下に供することにより架橋させるか、多糖誘導体の溶液にpH調整剤を添加して架橋する方法等が挙げられる。

より具体的には、pH7.5〜12、好ましくはpH9.0〜10.5の水存在下に供するこ

とで多糖誘導体を架橋させることができる。その際、水のpHが7.5より低いと、自己架橋性が低く、十分な架橋度が得られない。一方、pH12より高いものの適用は架橋反応は進行するものの、生理的条件の点で好適ではない。

[0071] 本発明において、「アルカリ条件」とは、pHが少なくとも7.5以上の水分が存在する条件をいう。本発明に係る架橋性多糖誘導体では、熱の架橋反応への寄与が実質的に大きくないため、「アルカリ条件」の温度は、特に限定されないが、例えば10℃〜40℃の範囲であることができる。

「アルカリ条件の水と接触させる」とは、多糖誘導体をアルカリ条件の形態の水分と接触させ、多糖誘導体をアルカリ条件におくことを意味する。多糖誘導体の形態が粉体である場合は、予めアルカリ条件に調整した水を添加したり、または多糖誘導体の粉とpH調整剤を混合された状態に水を添加することができる。多糖誘導体の形態が水溶液である場合は、予めアルカリ条件に調整した水を添加したり、またはpH調整剤を添加することができる。これらの操作により多糖誘導体がアルカリ性環境下に置かれ、架橋反応が開始する。すなわち、多糖誘導体はアルカリ条件の水分と接触することによりその架橋反応が開始し進行する。したがって、アルカリ条件の水分と多糖誘導体との混合物のpHはアルカリ条件であってもよいが、必ずしもアルカリ条件でなくてよい。多糖誘導体はアルカリ条件の水分と接触することにより架橋の形成が開始され、UV(紫外線)や加熱により架橋反応は実質的に開始されず、UVや熱により架橋の形成は実質的に進行しない。

[0072] 本発明に係る癒着防止材は、上記のような多糖誘導体が自己架橋性であることを利用して、そのみからなる癒着防止材を提供することができる。

癒着防止材としての多糖誘導体は、粉状物またはシート状物にして使用することができる。すなわち、粉状の多糖誘導体は、前述の合成反応により得られた多糖誘導体を解砕、あるいは粉砕して、必要であれば粒径調整を行い粒径の範囲を整えることにより取得できる。粒子径を小さくする為には、特に限定されないが、凍結粉砕、ミル粉砕および／または分級すればよい。解砕、粉砕後、篩い分けにより任意の粒度分布に調整することもできる。平均粒子径は特に限定されないが、平均粒子径数十nm〜数百μmが好ましい。得られた粉状物は、通常使用される方法によりペースト状

、エアロゾルとして調製することができる。

[0073] シート状の多糖誘導体は、多糖誘導体を水に溶解させる溶液調製工程と該溶液を所望の形状に展開して加熱乾燥または凍結乾燥する乾燥工程とにより製造することができる。具体的には、シート状の多糖誘導体は、多糖誘導体を溶解させた水溶液を調製し、凍結乾燥することで得ることができる。シート状の多糖誘導体を作製する時、水溶液を調製する水のpHは3.0ー7.5であることが好ましい。pHが3.0以下であると、得られるシートが強い酸性を示し、7.5以上であると、活性エステル基が遊離することがあるからである。加熱乾燥シートは、前記水溶液を基材に展開して、30ー110℃で加熱乾燥して得ることができる。必要に応じて、減圧下で加熱乾燥することもできる。凍結乾燥シートは、前記水溶液を凍結して、凍結しながら乾燥して得ることができる。必要に応じて、通常の凍結乾燥器を用いることができる。

[0074] また、本発明では、上記多糖誘導体(A)と、他の成分との組合せによる架橋性多糖組成物(以下、組成物または多糖組成物と略称することもある)の形態の癒着防止材も提供される。他の成分は、その種類にもよるが、多糖誘導体と接触した状態で組成物を形成していてもよく、用時混合まで非接触状態であってもよい。具体的に、たとえば上記多糖誘導体(A)と、pH調整剤(B)とを含む組成物からなる癒着防止材が提供される。

[0075] pH調整剤(B)は、混合されずに供給されるものであってもよいし、あらかじめ混合されていてもよい。混合される時期は、特に限定されないが、使用前または使用中であり、適宜選ばれる。上記多糖誘導体(A)とpH調整剤(B)との組成物は、必要に応じて他の物質を含有していてもよく、他の物質は、多糖誘導体と混合しても、混合していなくてもよい。

[0076] 本発明で使用するpH調整剤(B)は、主に、本発明に係る多糖誘導体または多糖組成物のpHを7.5ー12に調整するための水溶液、水を含有する溶媒、または塩(粉末)等を意味する。pH調整剤(B)は、特に限定されないが、具体的には、炭酸水素ナトリウム水溶液または粉末、リン酸系緩衝液(リン酸水素二ナトリウムーリン酸二水素カリウム)、酢酸ーアンモニア系緩衝液等が挙げられる。なかでも、炭酸水素ナトリウムは医療用pH調整剤として、その約7%水溶液(pH8.3)が静脈注射液として利用

されていることより、安全性の面で好適に使用できる。

[0077] 上記組成物の形態例としては、多糖誘導体の濃度が1〜80% (W/V) の水溶液と、これとは別に保持されたpH7.5〜10.5に調整した水との2成分系が挙げられる。

この系では、用時両者を混合して、最終的な多糖誘導体の濃度が0.1〜60% (W/V) の混合水溶液とすることができる。また、多糖誘導体の濃度が1〜80% (W/V) の水溶液に、用時、pH調整剤(B)の塩を添加して溶解させながら混合して、最終的な多糖誘導体の濃度が0.1〜80% (W/V) の混合水溶液からなるものも挙げることができる。混合は、通常の混合方法を選択することができるが、混合状態が均一になるまで行うことが好ましく、所望の反応が進行する程度での均一さであればよい。

[0078] また本発明では、癒着防止材として、多糖誘導体(A)と、他のポリマー(C)とを含む架橋性多糖組成物も提供される。ポリマー(C)は、多糖組成物を架橋させたときの含水ゲルの硬さ、その性状を調整するために使用される。上記多糖組成物には、多糖誘導体(A)の1種が含まれていてもよく、2種以上が含まれていてもよい。また、この組成物に、前記pH調整剤(B)を含ませてもよい。

[0079] ポリマー(C)は、特に限定されないが、ポリマー(C)の1分子中に2個以上の第1級アミノ基、チオール基、または水酸基を有するものを用いるのが好ましい。具体的にポリマー(C)としては、ポリアルキレングリコール誘導体、ポリペプチド、多糖またはその誘導体が挙げられる。本発明に係る多糖組成物中のポリマー(C)の含有量に特に制限はないが、多糖組成物全体に対して、5〜50質量%で配合されるのが好ましい。なお、ポリマー(C)は、1種単独でも2種以上を併用することもできる。

[0080] 前記ポリアルキレングリコール誘導体としては、ポリエチレングリコール(PEG)誘導体、ポリプロピレングリコール誘導体、ポリブチレングリコール誘導体、ポリプロピレングリコール−ポリエチレングリコールのブロックコポリマー誘導体、ランダムコポリマー誘導体が挙げられる。そして、ポリエチレングリコール誘導体の基本ポリマー骨格としては、エチレングリコール、ジグリセロール、ペンタエリスリトール、ヘキサグリセロールが挙げられる。ポリアルキレングリコール誘導体の分子量は100〜50,000であることが好ましい。より好ましくは、1,000〜20,000である。

[0081] 上記ポリエチレングリコール誘導体としては特に限定されないが、例えば、両末端

にチオール基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型ポリエチレングリコール誘導体、両末端にアミノ基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型ポリエチレングリコール誘導体、3つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型ポリエチレングリコール誘導体、3つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型ポリエチレングリコール誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型ポリエチレングリコール誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型ポリエチレングリコール誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型ポリエチレングリコール誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型ポリエチレングリコール誘導体、8つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型ポリエチレングリコール誘導体、8つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型ポリエチレングリコール誘導体が挙げられる。

[0082] 「重量平均分子量(weight-average molecular weight)」とは、高分子の平均分子量を表す数値の一つである。高分子は、同じ基本構造単位を有し異なる分子の長さ(鎖長)を有する分子の混合物であるため、分子の鎖長の違いに応じた分子量分布を有する。その分子量を示すために平均分子量を用いる。平均分子量には、重量平均分子量、数平均分子量等があるが、ここでは重量平均分子量を使用する。なお、本発明における重量平均分子量の値(100%)とは、その値に対して上限が110%のもの、下限が90%のものも包含する。ポリエチレングリコール誘導体は、例えば、Poly(ethylene Glycol)

Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications, J Milton Harris編, Plenum Press, NY(1992)の第22章に記載された方法に従って作製することができ、さらに一つまたは複数の1級アミノ基またはチオール基を含むように化学的に修飾することが

できる。また、日本油脂社より、ポリエチレングリコール誘導体(サンブライトHGEO-2 OTEA、サンブライトPTE-10TSH等)として購入することができる。

- [0083] 上記ポリペプチドとしては、特に限定されないが、コラーゲン、ゼラチン、アルブミンまたはポリリジンが挙げられる。多糖としては、特に限定されないが、ペクチン、ヒアルロン酸、キチン、キトサン、カルボキシメチルキチン、カルボキシメチルキトサン、コンドロイチン硫酸、ケラチン硫酸、ケラト硫酸、ヘパリンまたはそれらの誘導体が挙げられる。
- [0084] 多糖誘導体(A)とポリマー(C)とを含有してなる多糖組成物において、好適な多糖誘導体(活性エステル化多糖)(A)とポリマー(C)との組合せは、下記の通りである。なお、これらの組合せにおいて、その形状(シート状、粉状、液状)は、後述の実施例を参照することにより適宜選択することができる。
- [0085] 2つの末端にチオール基を有するエチレングリコール型PEG誘導体、2つの末端にアミノ基を有するエチレングリコール型PEG誘導体、3つの末端にチオール基を有するトリメチロールエタン型PEG誘導体、3つの末端にアミノ基を有するトリメチロールエタン型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有するペンタエリスリトール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有するペンタエリスリトール型PEG誘導体、8つの末端にチオール基を有するヘキサグリセロール型PEG誘導体、8つの末端にアミノ基を有するヘキサグリセロール型PEG誘導体、アルブミン、ゼラチン、コラーゲン、ポリリジン、ペクチン、キトサン、キチンおよびカルボキシメチル(CM)キチンからなる群から選ばれる少なくとも1つのポリマー(C)と活性エステル化ペクチンとの組合せ。
- [0086] 2つの末端にチオール基を有するエチレングリコール型PEG誘導体、2つの末端にアミノ基を有するエチレングリコール型PEG誘導体、3つの末端にチオール基を有するトリメチロールエタン型PEG誘導体、3つの末端にアミノ基を有するトリメチロールエタン型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有するペンタエリスリトール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有するペンタエリスリトール型PEG誘導体、8つの末端にチオール基を有するヘキサグリセロール型PEG誘導体、8つの末端にアミノ基を有するヘキサグリセロール型PEG誘導体、アルブミン、ゼラチン、コラーゲン、ポリリジン、ペクチン、キトサン、キチンおよびCMキチンからなる群から選ばれる少なくとも1つ

のポリマー (C) と活性エステル化CMデキストランとの組合せ。

[0087] 2つの末端にチオール基を有するエチレングリコール型PEG誘導体、2つの末端にアミノ基を有するエチレングリコール型PEG誘導体、3つの末端にチオール基を有するトリメチロールエタン型PEG誘導体、3つの末端にアミノ基を有するトリメチロールエタン型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有するペンタエリスリトール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有するペンタエリスリトール型PEG誘導体、8つの末端にチオール基を有するヘキサグリセロール型PEG誘導体、8つの末端にアミノ基を有するヘキサグリセロール型PEG誘導体、アルブミン、ゼラチン、コラーゲン、ポリリジン、ペクチン、キトサン、キチンおよびCMキチンからなる群から選ばれる少なくとも1つのポリマー (C) と活性エステル化CMプルランとの組合せ。

[0088] 2つの末端にチオール基を有するエチレングリコール型PEG誘導体、2つの末端にアミノ基を有するエチレングリコール型PEG誘導体、3つの末端にチオール基を有するトリメチロールエタン型PEG誘導体、3つの末端にアミノ基を有するトリメチロールエタン型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有するペンタエリスリトール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有するペンタエリスリトール型PEG誘導体、8つの末端にチオール基を有するヘキサグリセロール型PEG誘導体、8つの末端にアミノ基を有するヘキサグリセロール型PEG誘導体、アルブミン、ゼラチン、コラーゲン、ポリリジン、ペクチン、キトサン、キチンおよびCMキチンからなる群から選ばれる少なくとも1つのポリマー (C) と活性エステル化CMヒドロキシエチルスターチとの組合せ。

[0089] 両末端にチオール基を有する重量平均分子量が1, 000、2, 000、6, 000または10, 000のエチレングリコール型PEG誘導体、両末端にアミノ基を有する重量平均分子量が1, 000、2, 000、6, 000または10, 000のエチレングリコール型PEG誘導体、3つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5, 000または10, 000のトリメチロールエタン型PEG誘導体、3つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5, 000または10, 000のトリメチロールエタン型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5, 000、10, 000または20, 000のジグリセロール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5, 000、10, 000または20, 000のジグリセロール型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有

する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型PEG誘導体、8つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型PEG誘導体および8つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型ポリエチレングリコール誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1つのポリマー(C)と活性エステル化ペクチンとの組合せ。

[0090] 両末端にチオール基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型PEG誘導体、両末端にアミノ基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型PEG誘導体、3つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型PEG誘導体、3つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型PEG誘導体、8つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型PEG誘導体および8つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型PEG誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1つのポリマー(C)と活性エステル化CMデキストランとの組合せ。

[0091] 両末端にチオール基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型PEG誘導体、両末端にアミノ基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型PEG誘導体、3つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型PEG誘導体、3つの末端にアミノ基を有する重量平均分子

量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型PEG誘導体、8つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型PEG誘導体および8つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型PEG誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1つのポリマー(C)と活性エステル化プルランとの組合せ。

[0092] 両末端にチオール基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型PEG誘導体、両末端にアミノ基を有する重量平均分子量が1,000、2,000、6,000または10,000のエチレングリコール型PEG誘導体、3つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型PEG誘導体、3つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5,000または10,000のトリメチロールエタン型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が5,000、10,000または20,000のジグリセロール型PEG誘導体、4つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型PEG誘導体、4つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のペンタエリスリトール型PEG誘導体、8つの末端にチオール基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型PEG誘導体および8つの末端にアミノ基を有する重量平均分子量が10,000または20,000のヘキサグリセロール型PEG誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1つのポリマー(C)と活性エステル化CMヒドロキシエチルスターチとの組合せ。

[0093] 多糖誘導体(SD)(A)に対するポリマー(C)(AP)との混合比率(SD/AP)は、S

$D/AP=20/80-98/2$ (W/W)であることが好ましく、ポリマー(C)が80質量%よりも多く混合される場合は、ポリマー(C)の阻害により多糖誘導体(A)の自己架橋性が得られ難く、逆に、2質量%より少ない場合は、最終的に得られる含水ゲルの硬さ、その性状を調整するのが困難となるからである。

[0094] 上記多糖組成物からなる癒着防止材は、シート状、粉状、液状の所望の形態で提供することができる。前記粉状の多糖誘導体(A)に、粉状のポリマー(C)を混合して、粉状の多糖組成物を調製することができる。また、前記粉状の多糖組成物に、粉状のpH調整剤の塩を混合して得られるpH調整剤の塩を含む粉状の多糖組成物を調製することもできる。

[0095] 前記粉状の多糖組成物、あるいはpH調整剤の塩を含む前記粉状の多糖組成物を造粒して造粒物を調製することができ、また前記粉状の多糖組成物、pH調整剤の塩を含む前記粉状の多糖組成物を圧接してシート、プレートを調製することができる。シート状の多糖組成物は、前記多糖誘導体(A)の加熱乾燥シート、および凍結乾燥シートに、ポリマー(C)を粉状で付着させる、またはコーティング法によりポリマー(C)を添着させることにより得ることができる。ここで、「添着」とはシートの表面にポリマー(C)を含浸させることにより、シート表面をポリマー(C)が覆う状態をいう。シートが多孔構造の場合は、ポリマー(C)はシート表面とシート内部の孔の内表面を覆う状態をいう。

[0096] 多糖誘導体(A)の水溶液、ポリマー(C)の水溶液をそれぞれ調製し、二液型とすることができる。それら水溶液を混合することにより、多糖誘導体(A)とポリマー(C)からなる含水ゲルを調製することができる。このとき、多糖誘導体(A)の水溶液は、濃度が1-80%(W/V)であることが好ましく、ポリマー(C)の水溶液は、濃度が1-80%(W/V)であるのが好ましい。特に、ポリマー(C)を溶解する水は、pH7.5-10.5に調製した水であっても良いし、純水または緩衝液を使用して混合時にpH調整剤の塩を添加しても良い。多糖誘導体(A)の水溶液とポリマー(C)の水溶液とを混合後、最終的な多糖誘導体(A)とポリマー(C)とをあわせた濃度が0.1-80%(W/V)であることが好適である。

[0097] シート状の多糖組成物を水分存在下にて供することによって架橋させることができ

る。その際、水分として、前述のpH調整剤を使用することができる。pH調整剤は、pH7.5〜10.5の水溶液であることが好ましい。シート状の多糖組成物に、pH調整剤を粉状で付着させておいても良い。

[0098] シート状の多糖組成物は、多糖誘導体(A)を水に溶解させ、該溶液を所望の形状に展開して乾燥し、得られた多糖誘導体(A)のシート状物にポリマー(C)を添着させる添着工程を経て形成される。前記添着工程はポリマー(C)と非水系揮発性有機溶媒を含む溶液とをシート状物に含浸させ、乾燥させることによって、シート状の多糖誘導体(A)の表面の形状を損なうことなく、ポリマー(C)を添着させることが可能となる。なお、「非水系揮発性有機溶媒」とは、水と相溶せず、揮発する有機溶媒を意味する。非水系揮発性有機溶媒としては、特に限定はされないが、クロロホルム、ジクロロメタンなどが挙げられる。

[0099] 本発明において、癒着防止材の剤形は特に限定されないが、液状、シート状、粉状、ペースト、エアロゾルを挙げることができる。
癒着防止材としての多糖誘導体または多糖組成物を、上記したように所望の形状に展開して使用することができる。

[0100] ポリマー(C)を含む多糖組成物は、さらに前記pH調整剤と混合して使用することができる。多糖組成物をpH調整剤とを混合する際は、あらかじめ混合しておいてもよい(プレ混合)し、使用時にその場で適宜混合してもよい。使用時にpH調整剤等の水溶液を加えることにより、所望の局所に癒着防止材を適用することができる。

[0101] また、多糖組成物には、本発明の特性を損なわない範囲で、広く公知の添加剤をさらに含ませることができる。この際には、特に、生体に許容し得る添加剤を使用するのが好ましい。添加剤としては特に限定されないが、硬化触媒、充填剤、可塑剤、軟化剤、安定剤、脱水剤、着色剤、タレ防止剤、増粘剤、物性調整剤、補強剤、揺変剤、劣化防止剤、難燃剤、酸化防止剤、紫外線吸収剤、顔料、溶剤、担体、賦形剤、防腐剤、結合剤、膨化剤、等張剤、溶解補助剤、保存剤、緩衝剤、希釈剤等が挙げられる。これらを1種または2種以上含むことができる。

[0102] 添加剤として具体的には、水、生理食塩水、医薬的に許容される有機溶媒、ゼラチン、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマ

一、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサントガム、アラビアゴム、トラガント、カゼイン、寒天、ジグリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ワセリン、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン(HSA)、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、PBS、非イオン性界面活性剤、生体内分解性ポリマー、無血清培地、医薬添加物として許容される界面活性剤あるいは生体内で許容し得る生理的pHの緩衝液などが挙げられる。

[0103] 使用される担体は、使用部位に応じて上記の中から適宜あるいは組合せて選ばれるが、これらに限定されるものではない。また、適当なプロペラントによりエアロゾルやペーストなどの製剤として調製することができる。

[0104] 本発明の癒着防止材は、使用時の便宜を考慮して、前述のpH調整剤を含むキットとして提供することができる。癒着防止材は、多糖誘導体(A)、多糖組成物および／またはpH調整剤が、各々混合されていない状態で、癒着防止材と共にまたは別々に梱包またはパッケージの中に含めることができる。パッケージ中には癒着防止材として使用され得る他の構成物を含んでいても良い。

多糖誘導体または多糖組成物は、水溶液または粉状pH調整剤を含むあるいは含まない状態で、粉状、シート、または水溶液としてキットに包含することができる。

[0105] 「癒着防止材」とは、生体の癒着防止箇所またはその近辺にて癒着の防止を目的として使用される物質を意味し、生体に有害な毒性が低い安全な成分からなり、生体に許容される。癒着防止材は、生体において分解性を有してもよいし、非分解性であってもよい。好ましくは、生体分解性であることである。

目的とする箇所に癒着防止材を付し、必要に応じて癒着が発生した箇所あるいは癒着の発生が予測される箇所を覆うことにより、癒着が阻害され、癒着防止効果を発揮する。目的とする箇所に癒着防止材を付し、他の所望の部位を接着の上、固定、静置または圧着させ、一定時間を経過させる。その際、固定用具等を使用することができる。

[0106] 本発明では、癒着防止材を所望の部位に水分存在下にて接触させることからなる、

生体の癒着防止方法を提供する。所望の部位に接触させるためには、粉状の癒着防止材を吹き付ける、充填する、塗布することによって達成される。シート状の癒着防止材の場合、貼り付ける、充填する、被覆する、圧着する、静置することによって達成される。液状の癒着防止材の場合、塗布する、スプレーする、滴下する、塗る、塗り込むことによって達成される。これらの手段によって、生体の癒着防止を行うことができる。

[0107] 本発明の癒着防止材として使用される多糖誘導体は、1分子鎖中に活性エステル基および活性水素含有基を有し、該活性エステル基と該活性水素含有基とが、反応して共有結合することにより架橋構造を形成する多糖誘導体である。癒着防止材として使用したとき、臨床上の要求を満たし、安全性の面でも生体由来材料を利用せず、天然または人工の多糖を主骨格としているので、感染症等のリスクを回避できている。成分自体またはその分解物の毒性は小さく、多糖が主骨格なので生体分解吸収性も有するように材料設計されている。

[0108] また、本発明で使用される多糖誘導体は、用時を予め見計らって行う準備操作を少なくし、急な適用に対して迅速に対応でき、その使用にあたり特別な装置が不要なので、誰でも簡便に使用することができる。そして、多糖誘導体単独でもそれを含む多糖組成物としても提供できるので、幅広く多様な使用方法が可能である。多糖組成物は、上記の特性を有する多糖誘導体の特性を損なっていない。

[0109] さらに、上記多糖誘導体および多糖組成物は、粉状、シート状、造粒物等の他さまざまな形状に加工することができ、目的に応じて使い分けが可能である。この多糖誘導体および多糖組成物を製造する方法は、必要な試薬を混合して加熱すればよいので、特殊な装置等を要求されず簡便である。以上のような特性から、本発明に係る多糖誘導体およびその組成物は、癒着防止材として好適である。

以下に、実施例をもって本発明を一層具体的に説明するが、これらは一例として示すものであり、本発明はこれらにより何等限定されるものではない。

実施例

[0110] (合成例1)

(1)原料多糖(酸型多糖)の調製

活性エステル化多糖誘導体の原料となる原料多糖としてカルボキシメチルデキストラン(酸型CMデキストラン)を調製した。

デキストラン(Dextran T-40、Amersham Biosciences社、重量平均分子量40,000)10gに、18%水酸化ナトリウム水溶液(W/V)(水酸化ナトリウム、和光純薬工業社製)125gを添加して、25℃で90分間攪拌した。続いて、20%モノクロル酢酸水溶液(W/V)(モノクロル酢酸、和光純薬工業社製)75gを添加して、60℃で6時間攪拌した。その後、20%塩酸を使用して反応溶液をpH1.0に調整し、25℃で2時間攪拌した。反応溶液を90vol%エタノール水溶液(100%エタノール、和光純薬工業社製)5Lに滴下し、吸引ロートを用いて析出物を回収した。90vol%エタノール水溶液3Lを使用して得られた析出物を洗浄して、最後にエタノールで置換した後、減圧乾燥した。これにより、酸型CMデキストランを調製した。

[0111] (2)カルボキシ基、あるいはカルボキシメチル基の定量

上記(1)で得られた酸型CMデキストラン(原料多糖)について、これらのカルボキシ基、あるいはカルボキシメチル基の定量を行った。原料多糖0.2g(A(g))を秤取り、0.1mol/L水酸化ナトリウム水溶液20mLと80vol%メタノール水溶液10mLとの混合溶液に添加し、25℃で3時間攪拌した。得られた溶液に、指示薬として1.0%フェノールフタレイン(W/V)/90vol%エタノール水溶液を3滴添加し、0.05mol/L硫酸を使用して酸塩基逆滴定を行い、0.05mol/L硫酸の使用量(V_1 mL)を測定した(フェノールフタレイン、和光純薬工業社製)。また、原料多糖を添加しない以外は同様にして行ったブランクでの0.05mol/L硫酸の使用量(V_0 mL)を測定した。下記式(1)に従い、原料多糖のカルボキシ基およびカルボキシメチル基の基量(B mmol/g)を算出したところ、1.01mmol/gであった。なお、使用した0.1mol/L水酸化ナトリウム水溶液、0.05mol/L硫酸の力価は、ともに1.00であった。

[0112]
$$B = (V_0 - V_1) \times 0.1 \div A \cdots \cdots (1)$$

A:原料多糖の質量(g)

B:カルボキシ基およびカルボキシメチル基の基量(mmol/g)

[0113] (3)活性エステル化CMデキストランの調製

酸型CMデキストランの活性エステル化反応には、反応溶媒はDMSO、求電子性

基導入剤はN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)(和光純薬工業社製)、脱水縮合剤は1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC)(和光純薬工業社製)を使用し、活性エステル化多糖(多糖誘導体)を調製した。

上記(1)で得られた酸型CMデキストラン(カルボキシメチル基量1.01mmol/g)2.0gを、DMSO200gに添加し、70℃で3時間攪拌して溶解した。その後、NHS2.32g(20.2mmol)とEDC3.86g(20.2mmol)を添加して、25℃で24時間攪拌した。反応溶液を無水アセトン2Lに滴下し、吸引ロートを用いて析出物を回収した。無水アセトン1Lを使用して得られた析出物を洗浄して、減圧乾燥した。これにより、活性エステル化CMデキストランを調製した。Z/XおよびY/Xの比は下記の通りである。

$$Z/X=10, Y/X=10$$

[0114] (4) 活性エステル化多糖(多糖誘導体)のNHS導入量の算出

(3)で得られた活性エステル化CMデキストランについて、以下のようにして求めたNHS導入量は、0.4mmol/gであった。

NHS導入量は、多糖誘導体の単位重量あたりに存在するNHS含有量である。

N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)の検量線を作成するため、0.1、0.2、0.5、1.0、2.5mMのNHS標準水溶液を調製した。各NHS標準水溶液1mLに、2N水酸化ナトリウム水溶液0.2mLを添加し、60℃で加熱して10分間攪拌した。放冷後、0.85N塩酸1.5mL、および0.5%FeCl₃/1N塩酸溶液0.5mLを添加し、分光光度計を用いて吸収波長500nmの吸光度を測定した(FeCl₃、和光純薬工業社製)。各NHS水溶液の濃度をX軸、吸光度をY軸としてプロットし、線形近似を行い、下記のNHS濃度算出するための数式(2)を得た。

[0115] $Y = \alpha X + \beta \quad \dots\dots (2)$

X: NHS濃度(mM)

Y: 波長500nmにおける吸光度

$$\alpha = 0.178 \quad (\text{傾き})$$

$$\beta = 0.021 \quad (\text{切片})$$

$$r = 0.995 \quad (\text{相関係数})$$

吸光度を元にNHS濃度、X(mM)が算出される。

- [0116] 次に、(3)の活性エステル化多糖0.01g(C(g))を秤取り、純水1mLに添加して、25℃で3時間攪拌した後、2N水酸化ナトリウム水溶液0.2mLを添加して、60℃で加熱して10分間攪拌を行った。室温まで放冷した後、0.85N塩酸1.5mLを添加した。不溶物を含む、得られた溶液から、ろ過綿を用いて不溶物を除去した後、0.5% FeCl_3 / 1N塩酸溶液0.5mLを添加して、分光光度計を用いて吸収波長500nmにおける吸光度を測定した(FeCl_3 和光純薬工業社製)。吸光度測定値が、NHS標準溶液の濃度が5mMの時の吸光度を上回るときは、純水で希釈した(希釈倍率H)。前記NHS濃度算出する数式(2)を利用して吸光度測定値より、活性エステル化多糖のNHS基含有量(Dmmol)を算出した。続いて、下記の数式(3)より、活性エステル化多糖のNHS導入量を求めた。

$$\text{NHS導入量}(\text{mmol/g}) = (D \times H) \times 0.001 / C \cdots (3)$$

- [0117] (5)活性エステル化多糖誘導体の自己架橋性

上記で得られた活性エステル化多糖が自己架橋性であることを、以下の試験により確認した。容量10mLの清浄試験管(ラルボLT-15100、テルモ社製)に、活性エステル化多糖0.2gを秤取り、純水1mLを添加して混合した。次に、pH調整剤として8.3%炭酸水素ナトリウム水溶液(W/V)(炭酸水素ナトリウム、和光純薬工業社製)1mL(pH8.3)を添加し、試験管ミキサー(MT-31、ヤマト科学社製)を用いて約2,000rpmで約1分間混合した。その混合前後での試験管内容物の状態を目視にて確認した。これにより、活性エステル化CMデキストランは、混合後の試験管内容物が塊状物(含水ゲル)になっており、「自己架橋性あり」と判定した。

- [0118] (合成例2)

(1)原料多糖(酸型多糖)の調製

活性エステル化多糖誘導体の原料となる原料多糖としてカルボキシメチルヒドロキシエチルデンプン(酸型CMヒドロキシエチルデンプン)を調整した。

調整方法は、合成例1(1)において用いたデキストランの代わりに、ヒドロキシエチルデンプン(Coatmaster、三晶社、重量平均分子量200,000)を用いたこと以外は、全て合成例1(1)と同じ条件とした。

[0119] (2)カルボキシ基、あるいはカルボキシメチル基の定量

合成例1(2)に記載の酸型CMデキストランの場合と同様な方法で行なった。

合成例2(1)で得られた酸型CMヒドロキシエチルデンブンのカルボキシメチル基量は、0.72mmol/gであった。

[0120] (3)活性エステル化CMヒドロキシエチルデンブンの調製

酸型CMヒドロキシエチルデンブンの活性エステル化反応には、合成例1(3)と同じ反応溶媒、求電子性基導入剤、および脱水縮合剤を使用し、活性エステル化多糖を調整した。

上記の合成例2(1)で得られた酸型CMヒドロキシエチルデンブン(カルボキシメチル基量0.72mmol/g)2.0gをDMSO200gに添加し、70℃で3時間攪拌して溶解した。その後、NHS1.66g(14.4mmol)とEDC1.38g(7.2mmol)を添加して、25℃で24時間攪拌した。

そして、以降は合成例1(3)と同様に、反応溶液を無水アセトンに滴下、析出物回収、洗浄、減圧乾燥した。これにより、活性エステル化CMヒドロキシエチルデンブンを調製した。Z/XおよびY/Xの比は下記の通りである。

$Z/X=5$ 、 $Y/X=10$

[0121] (4)活性エステル化多糖(多糖誘導体)のNHS導入量の算出

合成例1(4)に記載の活性エステル化CMデキストランの場合と同様な方法で行なった。合成例2(3)で得られた活性エステル化CMヒドロキシエチルデンブンのNHS導入量は、0.19mmol/gであった。

[0122] (5)活性エステル化多糖誘導体の自己架橋性

合成例1(5)に記載の活性エステル化CMデキストランの場合と同様な試験を行い、活性エステル化CMヒドロキシエチルデンブンは、「自己架橋性あり」と判定した。

[0123] (合成例3)

(1)原料多糖(酸型多糖)の調製

活性エステル化多糖誘導体の原料となる原料多糖としてカルボキシメチルプルラン(酸型CMプルラン)を調製した。

調整方法は、合成例1(1)において用いたデキストランの代わりに、プルラン(PU1

01、林原生物科学研究所、重量平均分子量100,000)を用いたこと以外は、全て合成例1(1)と同じ条件とした。

[0124] (2)カルボキシ基、あるいはカルボキシメチル基の定量

合成例1(2)に記載の酸型CMデキストランの場合と同様な方法で行なった。合成例3(1)で得られた酸型CMプルランのカルボキシメチル基量は、0.79mmol/gであった。

[0125] (3)活性エステル化CMプルランの調製

酸型CMプルランの活性エステル化反応には、合成例1(3)と同じ反応溶媒、求電子性基導入剤、および脱水縮合剤を使用し、活性エステル化多糖を調整した。

上記の合成例3(1)で得られた酸型CMプルラン(カルボキシメチル基量0.79mmol/g)2.0gをDMSO200gに添加し、70℃で3時間攪拌して溶解した。その後、NHS1.82g(15.8mmol)とEDC1.51g(7.9mmol)を添加して、25℃で24時間攪拌した。

そして、以降は合成例1(3)と同様に、反応溶液を無水アセトンに滴下、析出物回収、洗浄、減圧乾燥した。これにより、活性エステル化CMプルランを調製した。Z/XおよびY/Xの比は下記の通りである。

$$Z/X=5, Y/X=10$$

[0126] (4)活性エステル化多糖(多糖誘導体)のNHS導入量の算出

合成例1(4)に記載の活性エステル化CMデキストランの場合と同様な方法で行なった。合成例3(3)で得られた活性エステル化CMプルランのNHS導入量は、0.20mmol/gであった。

[0127] (5)活性エステル化多糖誘導体の自己架橋性

合成例1(5)に記載の活性エステル化CMデキストランの場合と同様な試験を行い、活性エステル化CMプルランは、「自己架橋性あり」と判定した。

[0128] (合成例4)

(1)原料多糖(酸型多糖)の調製

活性エステル化多糖誘導体の原料となる原料多糖としてカルボキシメチルデキストリン(酸型CMデキストリン)を調製した。

デキストリン(和光純薬工業社製、重量平均分子量25000)10gを、純水62.5gに溶解させた後、36%水酸化ナトリウム水溶液(W/V)(水酸化ナトリウム、和光純薬工業社製)62.5gを添加し、25℃で90分間攪拌し溶解した。

そして、以降は合成例1(1)と同様であり、15%モノクロル酢酸の添加、pHの調整、エタノール水溶液への滴下、析出物の回収、洗浄、減圧乾燥を行った。これにより酸型CMデキストリンを調整した。

[0129] (2)カルボキシ基、あるいはカルボキシメチル基の定量

合成例1(2)に記載の酸型CMデキストランの場合と同様な方法で行なった。合成例4(1)で得られた酸型CMデキストリンのカルボキシメチル基量は、1.26mmol/gであった。

[0130] (3)活性エステル化CMデキストリンの調製

酸型CMデキストリンの活性エステル化反応には、合成例1(3)と同じ反応溶媒、求電子性基導入剤、および脱水縮合剤を使用し、活性エステル化多糖を調整した。

上記の合成例4(1)で得られた酸型CMデキストリン(カルボキシメチル基量1.26mmol/g)3.0gをDMSO90gに添加し、70℃で3時間攪拌して溶解した。その後、NHS4.35g(37.8mmol)とEDC7.22g(37.8mmol)を添加して、25℃で24時間攪拌した。

そして、以降は合成例1(3)と同様に、反応溶液を無水アセトンに滴下、析出物回収、洗浄、減圧乾燥した。これにより、活性エステル化CMデキストリンを調製した。Z/XおよびY/Xの比は下記の通りである。

$$Z/X=10, Y/X=10$$

[0131] (4)活性エステル化多糖(多糖誘導体)のNHS導入量の算出

合成例1(4)に記載の活性エステル化CMデキストランの場合と同様な方法で行なった。合成例4(3)で得られた活性エステル化CMデキストリンのNHS導入量は、0.80mmol/gであった。

[0132] (5)活性エステル化多糖誘導体の自己架橋性

合成例1(5)に記載の活性エステル化CMデキストランの場合と同様な試験を行い、活性エステル化CMデキストリンは、「自己架橋性あり」と判定した。

[0133] (合成例5)

(1) 原料多糖(酸型多糖)の調製

活性エステル化多糖誘導体の原料となる原料多糖としてカルボキシメチル高度分岐環状デキストリン(酸型CM高度分岐環状デキストリン)を調製した。

調整方法は、合成例4(1)において用いたデキストリンの代わりに、高度分岐環状デキストリン(商品名:クラスターデキストリン、江崎グリコ株式会社製、重量平均分子量163,000)を用いたこと以外は、全て合成例4(1)と同じ条件とした。

[0134] (2) カルボキシ基、あるいはカルボキシメチル基の定量

合成例1(2)に記載の酸型CMデキストランの場合と同様な方法で行なった。合成例5(1)で得られた酸型CM高度分岐環状デキストリンのカルボキシメチル基量は、1.27mmol/gであった。

[0135] (3) 活性エステル化CM高度分岐環状デキストリンの調製

酸型CM高度分岐環状デキストリンの活性エステル化反応には、合成例1(3)と同じ反応溶媒、求電子性基導入剤、および脱水縮合剤を使用し、活性エステル化多糖を調整した。

上記の合成例5(1)で得られた酸型CM高度分岐環状デキストリン(カルボキシメチル基量1.27mmol/g)3.0gをDMSO90gに添加し、70℃で3時間攪拌して溶解した。その後、NHS4.38g(38.1mmol)とEDC3.64g(19.05mmol)を添加して、25℃で24時間攪拌した。

そして、以降は合成例1(3)と同様に、反応溶液を無水アセトンに滴下、析出物回収、洗浄、減圧乾燥した。これにより、活性エステル化CM高度分岐環状デキストリンを調製した。Z/XおよびY/Xの比は下記の通りである。

$$Z/X=5, Y/X=10$$

[0136] (4) 活性エステル化多糖(多糖誘導体)のNHS導入量の算出

合成例1(4)に記載の活性エステル化CMデキストランの場合と同様な方法で行なった。合成例5(3)で得られた活性エステル化CM高度分岐環状デキストリンのNHS導入量は、0.53mmol/gであった。

[0137] (5) 活性エステル化多糖誘導体の自己架橋性

合成例1(5)に記載の活性エステル化CMデキストランの場合と同様な試験を行い、活性エステル化CM高度分岐環状デキストリンは、「自己架橋性あり」と判定した。

[0138] (実施例1)ラットの盲腸擦過モデルにおける癒着防止評価

上記合成例1〜5で得た活性エステル化多糖誘導体を癒着防止材として以下の実験に供した。

Sprague-Dawley (SD) 系ラットをネンブタール麻酔下で切開して開腹し、盲腸のみを切開創から取り出し、盲腸片側表面の漿膜をメスを用いて機械的に剥離後に乾燥ガーゼを用いて表面を出血を生ぜしめるまで擦過した。この部位全面を覆うように活性エステル化多糖誘導体を0.3ml被覆し、1molの Na_2HPO_4 0.3mlを塗布した活性エステル化多糖誘導体に噴霧しゲル化被覆させた。その後、切開創が塗布後の活性エステル化多糖誘導体の直上になるように盲腸を腹腔内に格納し、切開創を縫合した。被覆適用1週間後、2週間後に開腹して盲腸表面における癒着の程度を肉眼で観察し、組織標本を作製して組織学的に検討した。

[0139] なお、同様の損傷部位を作製して被覆適用しなかったものをコントロールとした。その結果、活性エステル化多糖誘導体を被覆適用したものでは1週間後及び2週間後のいずれのサンプルでも腹壁と盲腸間および盲腸と他臓器間の癒着は発生せず、1週間後の組織ではゲルの残存が観察され毛細血管および細胞の浸潤は少なかった。2週間後では盲腸表面は治癒し正常と変わらずサンプルは消失していた。

一方、コントロールでは1週間後及び2週間後のいずれのサンプルでも腹壁と盲腸間および盲腸と他臓器間の癒着が発生し、組織的には1週間後で腸管壁外側に線維状物が観察され、毛細血管などの新生も観察された。2週間後には毛細血管などは減少していたものの繊維状物の量は増え、繊維密度も増して強固な癒着形成が認められた。

産業上の利用可能性

[0140] 本発明に係る多糖誘導体または多糖組成物からなる癒着防止材は、安全性の面でも生体由来材料を利用せず、天然または人工の多糖を主骨格としているので、感染症等のリスクを回避できている。成分自体またはその分解物の毒性は小さく、生体分解吸収性も有するように材料設計されている。また、多糖誘導体は、用時を予め見

計らって行う準備操作を少なくし、急な適用に対して迅速に対応でき、その使用にあたり特別な装置が不要なので、誰でも簡便に使用することができる。そして、多糖誘導体は単独でも、また多糖組成物としても癒着防止材を形成することができるので、幅広く多様な使用方法が可能である。多糖組成物は、上記多糖誘導体の特性を損なっていない。

さらに、多糖誘導体および多糖組成物は、粉状、シート状、造粒物等の他さまざまな形状に加工することができ、目的に応じて使い分けが可能である。多糖誘導体および多糖組成物を使用する際は、必要な試薬を混合すればよいので、特殊な装置等を要求されず簡便である。以上のような特性から、多糖誘導体またはその組成物は癒着防止材として好適である。

請求の範囲

- [1] 多糖側鎖に導入された、活性水素含有基と反応しうる活性エステル基を少なくとも1つ有し、アルカリ条件下での水との接触により、前記活性エステル基と活性水素含有基との共有結合による架橋物を形成しうる架橋性多糖誘導体からなる癒着防止材。
- [2] 前記活性水素含有基が多糖分子内水酸基であり、前記多糖誘導体が自己架橋性である請求項1に記載の癒着防止材。
- [3] 前記活性水素含有基が生体表面の活性水素含有基であり、前記多糖誘導体が生体表面への接着性を有する請求項1または2に記載の癒着防止材。
- [4] 前記活性エステル基が、そのカルボニル炭素に、求電子性基が結合したエステル基である請求項1〜3のいずれかに記載の癒着防止材。
- [5] 前記求電子性基が、N-ヒドロキシアミン系化合物から導入される基である請求項4に記載の癒着防止材。
- [6] 前記多糖誘導体が、その乾燥重量に対し、前記活性エステル基を0.1〜2mmol/gの量で含む請求項1〜5のいずれかに記載の癒着防止材。
- [7] 前記多糖誘導体が、カルボキシ基および／またはカルボキシアルキル基をさらに有する請求項1〜6のいずれかに記載の癒着防止材。
- [8] 前記多糖誘導体が非塩型である請求項1〜7のいずれかに記載の癒着防止材。
- [9] 前記活性エステル基が導入される原料多糖が、カルボキシ基および／またはカルボキシアルキル基を有する前記架橋性多糖誘導体の前駆段階において、その非塩型で、60℃から120℃の間の温度で、非プロトン性極性溶媒に溶解性を示す多糖である請求項1〜8のいずれかに記載の癒着防止材。
- [10] 前記活性エステル基が導入される原料多糖が、それ自身は本来カルボキシ基およびカルボキシアルキル基をもたない多糖である請求項1〜9のいずれかに記載の癒着防止材。
- [11] 前記アルカリ条件が、pH7.5〜12の範囲である請求項1〜10のいずれかに記載の癒着防止材。
- [12] 請求項1〜11のいずれかで規定の前記架橋性多糖誘導体(A)と、該多糖誘導体(A)以外のポリマー(C)とを含む架橋性多糖組成物からなる癒着防止材。

- [13] 請求項1～11のいずれかで規定の前記架橋性多糖誘導体(A)と、該多糖誘導体(A)と非混合状態のpH調整剤(B)とを含む架橋性多糖組成物からなる癒着防止材。
- [14] さらに前記多糖誘導体(A)以外のポリマー(C)を含む請求項13に記載の架橋性多糖組成物からなる癒着防止材。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/004311

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61L31/00, A61K31/715, A61P41/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A61L31/00, A61K31/715, A61P41/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

| | | | |
|---------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| Jitsuyo Shinan Koho | 1922-1996 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996-2005 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971-2005 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994-2005 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

MEDLINE/CAPLUS/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPLUS (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| A | JP 08-257111 A (Collagen Corp.), 08 October, 1996 (08.10.96), Full text & EP 732110 A1 & US 005580923 A1 | 1-14 |
| A | JP 2-504163 A (Fidia S.p.A.), 29 November, 1990 (29.11.90), Full text & EP 341745 A1 & US 5676964 A1 | 1-14 |
| A | JP 2002-529549 A (Aquisitio S.p.A.), 10 September, 2002 (10.09.02), Full text & EP 341745 A1 & WO 89-010941 A1 & US 5676964 A1 | 1-14 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
14 April, 2005 (14.04.05)

Date of mailing of the international search report
10 May, 2005 (10.05.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/004311

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| P, X | JP 2004-359895 A (Makurotekku Kabushiki Kaisha), 24 December, 2004 (24.12.04), Full text (Family: none) | 1-14 |
| P, X | WO 2004/81055 A1 (Terumo Corp.), 23 September, 2004 (23.09.04), Full text (Family: none) | 1-14 |

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A61L31/00, A61K31/715, A61P41/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A61L31/00, A61K31/715, A61P41/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

| | |
|-------------|------------|
| 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-2005年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2005年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2005年 |

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

MEDLINE/CAPLUS/EMBASE/BIOSIS(STN) JSTPLUS(JOIS)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| A | JP 08-257111 A (コラーゲン・コーポレイション) 1996. 10. 08, 全文 & EP 732110 A1 & US 005580923 A1 | 1-14 |
| A | JP 2-504163 A (フィディーア・ソシエタ・ペル・アチオニ) 1990. 11. 29, 全文 & EP 341745 A1 & US 5676964 A1 | 1-14 |
| A | JP 2002-529549 A (アクイジティオ・ソチエタ・ペル・アツィオニ) 2002. 09. 10, 全文 & EP 341745 A1 & WO 89-010941 A1 & US 5676964 A1 | 1-14 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14. 04. 2005

国際調査報告の発送日

10. 5. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

川口 裕美子

4C

9829

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|---|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| P, X | JP 2004-359895 A (マクロテック株式会社) 2004. 12. 24, 全文 (ファミリーなし) | 1-14 |
| P, X | WO 2004/81055 A1 (テルモ株式会社) 2004. 09. 23, 全文 (ファミリーなし) | 1-14 |